This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

S
587
K4

UC-NRLF
$B 314 819

YB 51394

Digitized by Google

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF CALIFORNIA.
GIFT OF
Königsberg Univ.
Class

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

QV 4

Ueber Methoden zur Sterilisation von Erdboden und Pflanzensamen und über zwei neue thermoresistente Bakterien.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

philosophischen Fakultät der Albertus-Universität zu Königsberg i. Pr.

vorgelegt und nebst den beigefügten Thesen

Dienstag den 28 Juni 1904, Mittags 12 Uhr

öffentlich verteidigt von

Walter Kehler.

Opponenten:
Herr **Willy Knorr**, Assistent.
Herr **Paul Knorr**, stud. agr.

Königsberg i. Pr.
Buch- und Steindruckerei von Otto Kümmel.
1904.

Digitized by Google

3567
K4

Digitized by Google

Seiner lieben

Mutter

und dem Andenken seines teuren

Vaters

gewidmet

vom

Verfasser.

155593

Digitized by Google

Digitized by Google

Litteraturverzeichnis.

1. Berichte der pharm. Gesellschaft 5. Jahrgang.
2. Berliner klinische Wochenschrift 1889. No. 36.
3. Deutsche medizinische Wochenschrift 1891. No. 37.
4. Centralblatt für Bakteriologie etc. II. Abteilung.
5. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. (Jahrbücher).
6. Landwirtschaftliche Jahrbücher Bd. 30.
7. Flügge, die Mikroorganismen.
8. Günther, Bakteriologie.
9. Lehmann, Bakteriologie.
10. Heim, Bakteriologie.
11. Sorauer, Pflanzenkrankheiten.
12. Kirchner u. Bolthauser, Atlas der Krankheiten und Beschädigungen unserer landw. Kulturpflanzen.
13. Hollrung, die chemischen Desinfektionsmittel.
14. Kirchner, Krankheiten u. Beschädigungen landwirtschaftlicher Kulturpflanzen.
15. Hess, Formaldehyd als Desinfektionsmittel.
16. Hiltner, die Keimungsverhältnisse der Leguminosen und ihre Beeinflussung durch Organismenwirkung.
17. Herzberg, Vergleichende Untersuchungen über landwirtschaftlich wichtige Flugbrandarten (Inaug. Dissert.)

Digitized by Google

Digitized by Google

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

I. Methoden zur Sterilisation des Bodens.

Das Studium der den Erdboden bewohnenden Mikroorganismen gewinnt für die Landwirtschaft in täglich zunehmender Weise an Bedeutung.

In vielen Fällen ist es wichtig, die Einwirkung bestimmter Bakterienarten auf das Wachstum der Pflanzen kennen zu lernen, und nötig, den zu diesen Versuchen dienenden Erdboden vollkommen keimfrei zu machen, um ihn später mit Reinkulturen der betreffenden zu beobachtenden Bakterien zu impfen.

Denn nur so kann man mit Sicherheit annehmen, dass die geäusserten Lebensfunktionen der Mikroorganismen — seien es nun schädliche oder vorteilhafte Einflüsse auf das Gedeihen der Pflanze — wirklich den eingeimpften Bakterien oder sonstigen Mikroorganismen zuzuschreiben sind und nicht etwa durch andere in dem betreffenden Boden vorkommende Arten, teilweise auch vielleicht durch symbiotische Wirkung derselben hervorgerufen werden.

In jedem Erdboden finden sich Bakterien, die unter ungünstigen Lebensbedingungen leicht Dauerformen, sogenannte Sporen bilden. Diese Dauersporen sind es gerade, die bei der Sterilisation des Bodens Schwierigkeiten bereiten, da sie sich bedeutend resistenter gegen

Digitized by Google

Desinfektionsmittel erweisen, als Milzbrandsporen, die von pathogenen Sporen für die widerstandsfähigsten gelten und deshalb für die Beurteilung der Wirkung von Desinfektionsmitteln gewissermassen als Massstab angenommen werden.

Hierbei geht man von der Ueberlegung aus, dass alle andern pathogenen Bakterien und Sporen abgetötet werden, sobald das Desinfektionsmittel auf die als am meisten widerstandsfähig geltenden Milzbrandsporen mit Erfolg gewirkt hat.

Die Wirkung eines Desinfektionsmittels auf den Boden darf man aus dem vorher angeführten Grunde also nicht nach der Abtötung der Milzbrandsporen beurteilen, sondern hier bieten uns verschiedene Arten später zu beschreibender Dauersporen der Gartenerde gewisse Anhaltspunkte.

Es lag sehr nahe, zur Sterilisation des Erdbodens die Heissluftmethode anzuwenden.

Koch und Wolffhügel haben schon im Jahre 1881 durch umfangreiche Versuche nachgewiesen, dass ein dreistündiges, trockenes Erhitzen bei einer Temperatur von 140° nicht genügt, die Sporen gewisser Bakterien der Gartenerde in dickerer Schicht abzutöten.

Sie verwendeten dabei allerdings schlechte Wärmeleiter wie Kleiderbündel, Kopfkissen etc. und gingen bei ihren damaligen Versuchen nicht über 140° hinaus, da sich die Versuche hauptsächlich auf Kleiderdesinfektion bezogen, und sie fanden, dass alle Stoffe durch eine Temperatur von 140° bei längerer Einwirkungsdauer mehr oder weniger angegriffen wurden.

Digitized by Google

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Deshalb fing ich meine Versuche über die Wirkung von heisser Luft bei einer Temperatur von 150° an und habe dieselben nachstehend beschrieben.

A. Versuche mit heisser Luft, strömendem Wasserdampf und siedendem Wasser.

Zunächst versuchte ich also, den Boden durch längeres Erhitzen bei Temperaturen von 150° aufwärts keimfrei zu machen.

Zu diesem Zweck befüllte ich Literflaschen von ca. 20 cm Höhe und 12 cm Durchmesser mit je 1 Kilo einer Bodenmischung, die aus 3 Teilen Sand und 1 Teil humoser Gartenerde bestand. Diese Mischung war lufttrocken. Sie enthielt ca. 14 % Wasser und wurde zu allen späteren Versuchen verwandt.

Die Oeffnung der Flaschen verschloss ich mit einem Wattestopfen. Die Höhe der Bodenschicht betrug 8 cm.

Diese Flaschen brachte ich in einen regulierbaren Heissluftsterilisator und heizte ihn auf 150° an. Dann liess ich diese Temperatur je $^1/_4$, $^1/_2$ und ca. 1 Stunde auf den Inhalt von je drei Flaschen einwirken.

Nachdem die Flaschen mit ihrem Inhalt abgekühlt waren, entnahm ich denselben mit ausgeglühter Platinöse Proben und impfte damit zwei verschiedene Nährlösungen, bestehend aus:

I. Liebigs Fleischextract 5,0
Pepton 5,0
gelöst in Wasser 1000 ccm
Natr. carbon. bis zu ganz schwach alkalischer Reaktion.

Digitized by Google

II. Abkochung gemahlener Lupinensamen:
(Verhältnis 10,0 : 1000,0)
Glucose 5,0
Natr. carbon. bis zu ganz schwach alkalischer Reaktion.

In die Röhrchen brachte ich je 10 ccm der Nährlösungen und sterilisierte sie durch 20 Minuten langes Erhitzen drei Tage nach einander im Dampftopf.

Bereits nach 24 Stunden zeigten die mit erhitzten Erdbodenproben geimpten Röhrchen Bakterienwachstum, während ungeimpfte Kontrollröhrchen sämtlich keimfrei blieben.

Auf eine Ueberschichtung des Bodens in den Flaschen mit obiger Nährbouillon, die zur Verhütung der Luftinfektion unter einer Glasglocke vorgenommen wurde, in der sich ein Aetherschwamm befand, ergab ebenfalls bei 26 ° sehr bald starkes Bakterienwachstum.

Es genügt also ein einstündiges Erhitzen auf 150 ° nicht, um die Sporen bei Verwendung von 1 Kilo Boden sämtlich abzutöten.

Es war also notwendig, die Temperatur zu steigern.

So wendete ich Temperaturen von 175 ° und 200 ° die ich in derselben Weise auf je 3 Flaschen mit 1 Kilo Boden eine Stunde lang einwirken liess.

Nach dem Abkühlen wurden wieder Proben entnommen und damit Bouillonröhrchen geimpft, die nach dreitägigem Stehen bei 26 ° ein sehr verschiedenes Aussehen zeigten, das folgende Tabelle erläutert:

Digitized by Google

Erhitzungsdauer	Temperatur	Aussehen u. Geruch der Bouillon	Bakterienbefund
1 Std.	150°	Grün gefärbt, Geruch nach Faeces	Zahlreiche, verschiedene Bakterienformen
1 Std.	175°	Gelbgrün gefärbt, fast geruchfrei, weniger zersetzt	Grösstenteils Stäbchenformen, weniger Arten
1 Std.	200°	Gelb, reiner Bouillongeruch	Ausschliesslich zwei Stäbchenformen, die auf d. Oberfläche Häute bilden

Die Proben, welche 1 Stunde auf 200° erhitzt waren, zeigten also nur noch zwei Bakterienarten, die ich einer genaueren Untersuchung unterzog.

Bacillus A s. Tafel, zeigte starke Stäbchen mit abgerundeten Ecken von 4 μ Länge und 1,5—2,0 μ Breite. Jedenfalls war es derselbe Bacillus, den schon Koch bei seinen Versuchen mit Gartenerde als den „kurzen, dicken Bacillus" bezeichnet, dessen Sporen noch widerstandsfähiger gegen Hitze sind als diejenigen des Heubacillus. Die Bakterien hingen meist zu zweien zusammen.

Auf Bouillonagar in Reinkultur gebracht, zeigten sich in Petrischalen nach 2×24 Stunden weisse, schleimige Oberflächenkolonien von verschiedener Grösse, die bei gewöhnlicher Zimmertemperatur (ca. 16°) leicht endogene Sporen bildeten.

In einigen Tagen zerfielen sämtliche Bakterien in solche Sporen, die stark lichtbrechend waren. Sie liessen sich mit Carbolfuchsin färben, jedoch blieb die Mitte ungefärbt.

Digitized by Google

Die zweite Art, Bacillus B, s. Tafel, zeigte kleinere Stäbchen von 2,5—3 μ Länge und ca. 0,4—0,6 μ Dicke. Die Stäbchen lagen fast stets einzeln neben einander. Die Kolonien wuchsen sehr schnell und zeigten ein strahlig verzweigtes Aussehen von mattnebeliger Farbe.

Im hängenden Tropfen bei 30° beobachtet zeigten beide Arten lebhafte Eigenbewegung, die sich bei zunehmender Temperatur noch steigerte und sogar bei 58° noch eine äusserst lebhafte war, ein Zeichen dafür, dass diese Bakterien eine derartig hohe Temperatur nicht nur vertragen, sondern dabei noch eine kräftige Vermehrung zeigen.

In einem Brutschrank, der auf 65° angeheizt wurde, hielt ich die Bakterien in flüssiger Nährlösung 14 Tage lang, ohne dass sie abgetötet wurden. Allerdings bildeten sie Sporen, die sich jedoch bei 26° wieder schnell zur Bakterienform entwickelten und sich vermehrten. —

Ein weiterer Versuch, den Boden durch Hitze zu sterilisieren bestand darin, dass ich je 1 Kilo Boden in Erlenmeyerkolben aus Jenenser Glas auf 200° im Autoclaven erhitzte und diese Temperatur 2 und 3 Stunden einwirken liess.

Nachdem der Boden abgekühlt war, impfte ich wieder Proben, die ich mit geglühter Platinöse den verschiedenen Bodenschichten entnahm, in Bouillonröhrchen. Aber nur die drei Stunden erhitzten Proben zeigten sämtlich selbst nach 10 tägigem Stehen im Brutschrank bei 26° nicht das geringste Bakterienwachstum, während von fünfzehn Röhrchen, die mit zwei Stunden erhitztem Boden geimpft waren, doch noch zwei Bakterienentwickelung nach vier Tagen zeigten.

Digitized by Google

Wenn die Bodenproben auch bei dreistündigem Erhitzen auf 200,0 steril geblieben waren, so ist diese Methode der Bodensterilisation jedoch aus andern Gründen wenig brauchbar, und es würde sich dieselbe höchstens für trockne, reine Sandböden empfehlen.

Grössere Bodenmengen würden eine bedeutend längere Zeit brauchen, um durch Hitze, wegen des schwierigeren Eindringens derselben in die dickere Schicht, sterilisiert werden zu können.

Bei feuchten Bodenarten würde sich diese Zeitdauer noch bedeutend vergrössern, da zunächst alles Wasser ausgetrieben werden müsste, um die Temperatur überhaupt auf 200 0 zu bringen. Schliesslich käme als wichtigster Nachteil dieser Methode noch der Umstand in Betracht, dass ein Humus haltiger Erdboden durch eine derartig hohe Temperatur bei drei- und mehrstündiger Einwirkung sehr weit gehende chemische und physikalische Veränderungen erleiden würde, sodass er für Vegetationsversuche nicht mehr als normal angesehen werden könnte. Besonders würden die leicht flüchtigen Stickstoffverbindungen darunter leiden. Ueberhaupt ist man, besonders in neuerer Zeit, von der Heissluftdesinfektion, deren Bedeutung früher stark überschätzt wurde, mehr abgekommen. Man hat sich jetzt mehr der Desinfektionsmethode mittels strömenden Wasserdampfes zugewandt, die z. B. in Krankenhäusern zur Kleiderdesinfektion fast ausschliesslich in Anwendung kommt.

Hieran anschliessend nahm ich folgenden Versuch vor:

Zunächst stellte ich 10 wie vorher mit Erde beschickte Literflaschen mit Wattestopfen verschlossen in

Digitized by Google

den Sterilisator, heizte ihn auf 100° an und liess bei dieser Temperatur die strömenden Wasserdämpfe drei Tage nacheinander je 30 Minuten auf die Versuchsobjekte einwirken. Die Impfungen in Bouillon ergaben jedoch ein negatives Resultat.

Um schliesslich noch die direkte Einwirkung siedenden Wassers auf die Erde zu studieren, benutzte ich ein Gefäss aus verzinntem Eisenblech von ca. 14 cm Durchmesser und 25 cm Höhe, dessen Deckel übergriff und drei mit Tuben versehene Oeffnungen besass.

In dieses Gefäss schüttete ich 1 Kilo Bodenmischung ein und übergoss dieselbe mit $1^1/_2$ Liter Wasser. Die Tuben verschloss ich mit Wattestopfen und ebenso wurde der Deckel durch Drahtüberschnürung auf eine Watteeinlage festangepresst.

Durch einen kräftigen Bunsenbrenner wurde dann dass Gefäss erhitzt, bis das Wasser ins Kochen geriet, und das letztere 30 Minuten im Sieden erhalten. Dasselbe wiederholte ich an den beiden folgenden Tagen. Proben des so behandelten Bodens ergaben in Bouillon übergeimpft, jedoch schon nach 2×24 Stunden starkes Wachstum der vorher beschriebenen Bakterienarten.

Wegen der Umständlichkeit und Erfolglosigkeit dieses Verfahrens, das bei grösseren Bodenmengen natürlich noch viel grössere Schwierigkeiten bieten würde, wurden diese Versuche nicht fortgesetzt.

Nach diesen Versuchen mit heisser Luft, strömendem Wasserdampf und siedendem Wasser wandte ich mich den chemischen Desinfektionsmitteln zu.

Digitized by Google

B. Versuche mit chemischen Desinfektionsmitteln.

Von allen gebräuchlichen, chemischen Desinfektionsmitteln konnten natürlich nur solche in Frage kommen, die sich nach der Einwirkung wieder aus dem Boden entfernen liessen, da sonst die späteren Vegetationsversuche durch sie geschädigt worden wären. Deshalb musste ich mein Augenmerk zunächst auf die flüchtigen, chemischen Desinfektionsmittel richten.

Meine Versuche beschränkten sich auf Chloroform, Schwefelkohlenstoff, der in Weinbergen z. B. als Mittel gegen die Reblaus Verwendung findet, Aether und den gerade in den letzten Jahren mehr und mehr in Aufnahme kommenden Formaldehyd.

Wieder beschickte ich Literflaschen mit je 1 Kilo Bodenmischung und liess je 2, 3, 5 und 10 gr Chloroform bezw. Schwefelkohlenstoff auf den Boden einwirken und zwar zunächst 24 Stunden.

Die Wattestopfen wurden zur Vermeidung der Verdunstung der Desinficientia mit feuchtem Pergamentpapier überbunden.

Nach 24 Stunden impfte ich wieder in Bouillon über. Die Impfungen ergaben jedoch ein negatives Resultat.

Auch bei längerer Einwirkung des Chloroforms bezw. Schwefelkohlenstoffs, die ich bis zu 10 Tagen ausdehnte, war es nicht möglich, einen völlig sterilen Boden zu erzielen.

Salkowski und Kirchner haben schon Untersuchungen über die desinficierende Wirkung des Chloroforms angestellt und betonen ausdrücklich, dass

Digitized by Google

es sich sehr wohl zur Abtötung sporenfreier Bakterien eignet. Jedoch werden die Sporen der Gartenerde durch Chloroform fast garnicht geschädigt, ebensowenig durch Schwefelkohlenstoff.

Noch bedeutend weniger hatte Aether selbst in grösseren Gaben gewirkt.

Da diese Desinfektionsmittel wegen ihrer geringen Wirksamkeit nicht weiter in Betracht kommen konnten, setzte ich diese Versuche nicht weiter fort, sondern wandte mich dem Formaldehyd zu.

Sterilisationsversuche mit Formaldehyd.

Ueber die bakterienschädigenden Eigenschaften des Formaldehyds hat zuerst Loew berichtet. Später sind Rosenberg, Trillat, Niemann und andere Forscher für die vorzügliche Wirkung des Formaldehyds hauptsächlich zum Zweke der Wohnungsdesinfektion eingetreten.

Sie kamen übereinstimmend zu dem Resultat, dass die Methode der Desinfektion mittels reinen Formaldehydgases derjenigen des sogenannten Formaldehyd'sprays entschieden vorzuziehen sei, da der gasförmige Formaldehyd Stoffe und Gegenstände nicht beschädigt, während Formaldehyd in wässriger Lösung direkt auf Kleidungsstücke etc. gebracht, Flecke hervorruft.

Zur Erzeugung der Gase wurden eine ganze Reihe sog. Formaldehydlampen konstruiert, durch die Methylalkohol direkt zu Formaldehyd oxydiert wird, indem man die Dämpfe des Methylalcohols über glühende Kupfer- oder Platinspiralen leitet.

Digitized by Google

Für die Bodensterilisation kann man aber die Methode mittels gasförmigen Formaldehyds nicht in Betracht kommen, da besonders ein feuchter Boden für Formaldehyddämpfe nicht durchlässig wäre.

Von dieser Ueberlegung ausgehend stellte ich meine Versuche mit wässriger Formaldehydlösung an. Ich benutzte zu allen Versuchen Schering's (40 %) Formaldehydlösung, die unter dem Namen „Formalin" oder „Formol" in den Handel kommt.

Es handelte sich bei der Bodensterilisation mittels Formaldehyd um folgende Fragen:

1. Wieviel Formaldehyd ist notwendig, um die resistenten Sporen im Boden abzutöten und wie lange muss derselbe einwirken?
2. Wie kommt der Formaldehyd am wirksamsten zur Verteilung im Boden?
3. Auf welche Weise kann man den angewandten Formaldehyd wieder aus dem Boden herausschaffen oder für die Entwickelung der Pflanzen und später einzuimpfender Bakterienarten unschädlich machen?

Ich will versuchen, die Fragen der Reihe nach zu beantworten.

I. Wieviel Formaldehyd ist notwendig, um die resistenten Sporen im Boden abzutöten und wie lange muss derselbe einwirken?

Um die Menge des zur Abtötung der Keime notwendigen Formaldehyds festzustellen, befüllte ich wieder je 5 Literflaschen mit je 1 Kilo Boden und setzte pro Flasche 0,5, 1,0, 1,5, 2, 3 u. 5 ccm Formalin durch einfaches Aufträufeln zu.

Digitized by Google

Nach 24 Stunden impfte ich aus sämtlichen Flaschen Proben in Bouillonröhrchen über, die ich der oberen mittleren und unteren Bodenschicht entnahm. Die geimpften Röhrchen liess ich bei 26° im Brutschrank. Nach 2 Tagen war die Bouillon in sämtlichen Röhrchen, die mit Proben aus der oberen Bodenschicht geimpft waren, klar geblieben und erwies sich bei mikroskopischer Untersuchung als steril. Die Proben aus der unteren Bodenschicht hatten sämtlich die Bouillon infiziert, während die Proben aus den mittleren Bodenschichten zum Teil besonders bei den grösseren Formaldehydgaben steril geblieben waren.

Nach drei Tagen wurden denselben Flaschen wieder Proben entnommen und damit Bouillonröhrchen geimpft. Jetzt zeigten sich alle Bodenproben, die mit 3—5 ccm $^0/_{00}$ Formalin behandelt waren auch aus den unteren Bodenschichten steril, nur ein einziges Röhrchen mit 3 $^0/_{00}$ Formalin behandeltem Boden war infiziert.

Bei der Entnahme von Proben am siebenten Tage waren alle Bouillonröhrchen, die mit bis 2 $^0/_{00}$ abwärts behandelten Bodenproben geimpft waren, selbst nach zehntägigem und längerem Stehen im Brutschrank bei 26° steril geblieben.

Die Einwirkung des Formalins geschah bei ca. 19°. Die Flaschen standen auf dem Brutschrank, wo sich die Temperatur ziemlich konstant erhielt.

2. Wie kommt der Formaldehyd am besten zur Verteilung im Boden?

Die obigen Versuche haben gezeigt, dass das Aufträufeln des Formalins in so konzentrierter Lösung wohl

Digitized by Google

im Stande ist, den Boden zu sterilisieren, dass jedoch das Eindringen desselben in tiefere Bodenschichten und somit seine Wirkung auf diese Schichten sehr langsam vor sich geht.

Etwas schnellere Resultate erzielte ich, wenn ich das Formalin in die Mitte des Bodens brachte.

Am besten wirkte das Formalin jedoch, wenn ich zunächst 200 gr Boden in die Flasche brachte, dann das mit 100—150 ccm Wasser verdünnte Formalin herübergoss und schliesslich die übrigen 800 gr Boden zugab, sodass der ganze Boden gleichmässig durchfeuchtet wurde.

Bei diesen Versuchen genügten schon 2 ccm $^0/_{00}$ Formalin, um den Boden bei viertägiger Einwirkungsdauer zu sterilisieren. Für die Praxis würden sich jedoch 3—5 ccm Formalin pro 1 Kilo Boden bei 3—4 tägiger Einwirkungsdauer empfehlen, um ganz sicher zu gehen.

Versuche mit 0,5, 1,0 u. 1,5 ccm Formalin $^0/_{00}$ lieferten auch bei Verdünnung mit Wasser keine sicheren Resultate.

3. Auf welche Weise kann man den angewandten Formaldehyd wieder aus dem Boden herausschaffen oder für die Entwickelung der Pflanzen und später einzuimpfender Bakterienarten unschädlich machen?

Diese wichtigste Frage bot die Hauptschwierigkeit, da der Formaldehyd ein so starkes Pflanzengift ist, dass die Vegetationsversuche in derartig sterilisiertem Boden nur ausgeführt werden können, wenn der Formaldehyd vollständig entfernt ist oder wenigstens seine pflanzenschädigenden Eigenschaften verloren hat.

Digitized by Google

Zunächst versuchte ich, den Formaldehyd durch Erhitzen auszutreiben, jedoch selbst einstündiges Erhitzen bei 150° hatte nicht den gewünschten Erfolg, da der Formaldehyd beim Erhitzen schwerflüchtige Polymerisationsprodukte bildet, die ebenfalls pflanzenschädigende Eigenschaften besitzen.

Auch ein Versuch, den Formaldehyd durch Evacuirung mittels einer Luftpumpe zu entfernen, hatte ein negatives Resultat.

Beides bewies ich durch Einpflanzen gekeimter Samen in derartig behandelte Böden. Die jungen Pflänzchen hörten sofort in ihrer Entwickelung auf und gingen in kurzer Zeit ein.

Auch zeigten Bodenproben stets noch Formaldehydreaction (Blaufärbung mit Phenylhydrazin und Nitroprussidnatrium nach Zusatz von koncentrierter Natronlauge).

Letztere Reaktion zeigt Formaldehyd noch in einer Verdünnung von 1,0 : 1 000 000,0 an.

Deshalb musste ich meine Versuche auf chemische Reaktionen des Formaldehyds, deren Endprodukte für die Entwickelung von Pflanzen und Bakterien unschädlich sind, beschränken. —

In seiner Arbeit über „Formaldehyd als Desinfektionsmittel“ weist schon Hess darauf hin, dass die beiden Polymerisationsprodukte des Formaldehyds, Paraformaldehyd und Methylal desinfektorisch unwirksam sind.

Auch entstehen durch Zersetzung des Formaldehyds durch Ammoniumsalze Endprodukte, die weder der Entwickelung von Bakterien noch der Keimung von Pflanzensamen hinderlich sind.

Digitized by Google

Mit Ammoniumsulfat entsteht nach Ploechl Trimethylaminsulfat neben geringen Mengen von Formodimethylaminsulfat, während Kohlensäure entweicht.

Auch dieses Endprodukt erwies sich weder als Bakterien- noch als Pflanzengift.

So fand ich im kohlensauren und schwefelsauren Ammonium geeignete Mittel, den Formaldehyd nach seiner desinfektorischen Wirkung auf den Boden zu zersetzen und für Vegetationsversuche mit Bakterienimpfung unschädlich zu machen.

Zu den folgenden Versuchen stellte ich zunächst eine wässrige Lösung von krystallinischem Ammoniumcarbonat im Verhältnis von 1 : 5 her.

Von dieser Lösung that ich zu je einem Kilo Boden, der durch siebentägige Einwirkung von 2 ccm Formalin sterilisiert war, je 5, 7 und 10 ccm hinzu, überschichtete dann mit Bouillon und impfte teils mit Bacillus subtilis teils mit Bac. prodigiosus, die ich Reinkulturen entnahm.

Nach 2 Tagen waren bei 26 ° in den mit 5 ccm der Lösung behandelten Versuchen keine Bakterien zur Entwickelung gekommen, während die Bouillon mit 7 und 10 ccm Ammoniumcarbonatlösung sehr starke Entwickelung der eingeimpften Bakterien gezeitigt hatte.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass man den Formaldehyd mit Ammoniumcarbonat für Bakterien und, wie spätere Versuche zeigten, auch für Vegetationsversuche unschädlich machen kann.

Für 1 ccm Formalin (40 %) sind 3,5 ccm Ammoniumcarbonatlösung (20 %) erforderlich.

Digitized by Google

Parallelversuche mit dem schwefelsauren Ammoniumsalz ergaben dasselbe Resultat, jedoch nur bei einer vorangegangenen Kalkung des Bodens mit $CaCO^3$.

Es waren zur Zersetzung von 1 ccm Formalin (40 %) 12,5 ccm Ammoniumsulfatlösung (20 %) notwendig.

Sämtliche mit Bouillon überschichteten und mit denselben Bakterien geimpften Kontrollversuche ohne Ammoniumsalzbehandlung blieben steril.

Diese beiden Sterilisationsmethoden würden sich überall da anwenden lassen, wo es sich nicht gerade darum handelt, Bakterien in ihrer Einwirkung auf die Pflanzenentwickelung in stickstofffreien Böden zu beobachten. Für den letzteren Fall musste ich also eine besondere Methode ohne Stickstoffzusatz in Form von Ammoniumsalzen ausarbeiten.

Einen günstigen Anhaltspunkt für eine derartige Methode bot mir die Eigenschaft des Formaldehyds, mit Calciumhydroxyd Formose zu bilden.

Nach Loew wird nämlich der Formaldehyd beim Schütteln oder Erwärmen mit Calciumhydroxyd zu Formose kondensiert. Zu einem Vorversuch verdünnte ich 5 ccm Formalin in einem Erlenmeyerkolben mit Wasser und setzte 10 gr Calciumhydroxyd zu, erwärmte das Gemisch eine halbe Stunde auf dem Wasserbade, leitete dann zur Fällung des Calciums Kohlensäure ein und filtrierte. Das Filtrat versetzte ich zu gleichen Teilen mit Nährbouillon und impfte mit Gartenerde, Bacillus prodigiosus und Bacillus subtilis.

Digitized by Google

Die geimpften Proben zeigten nach 2 Tagen im Brutschrank bei 26 ° in sämtlichen zehn Proben reichliches Wachstum der eingeimpften Bakterien.

Der Formaldehyd war also vollständig zersetzt und zeigte auch bei einer Prüfung nicht mehr die oben erwähnte Reaktion.

Nach diesem Vorversuch setzte ich zu je 1 Kilo Boden, der mit 3 ccm Formalin sterilisiert und mit Wasser überschichtet war, je 3 gr Calciumhydroxyd und liess die Mischung einen Tag bei 40 ° im Brutschrank stehen. Dann leitete ich durch ein Glasrohr, das vorher durch den Wattestopfen eingeführt war und bis in die Flüssigkeit reichte, Kohlensäure ein. Die Kohlensäure ging durch einen Wattestopfen im Glasrohr bequem hindurch. Nachdem das Calciumcarbonat ausgeschieden war, liess ich durch einen Tubus am unteren Rande der Flasche, der mit Kork und langem Glasrohr mit Gummischlauch und Quetschhahn versehen war, die überstehende Flüssigkeit ab.

Die feuchte Erde gab nicht mehr die Formaldehydreaktion mit Phenylhydrazin etc. Auch wuchsen in ihr eingeimpfte Bakterien der Gartenerde. Ebenso kamen Mais und andere Samen in ihr zur gesunden Entwickelung.

Die kurz zusammengefassten Resultate sind folgende:

1. Heissluftsterilisation eignet sich nur bei dreistündigem Erhitzen auf 200 ° für trockene Sandböden ohne organische Stoffe.
2. Die Anwendung von siedendem Wasser und Wasserdämpfen ist überhaupt nicht zu empfehlen, weil zu umständlich und zeitraubend gegenüber den anderen Methoden.

Digitized by Google

3. Für Bodenarten, in denen zum Zweke der späteren Pflanzenkulturen Ammoniak-Verbindungen enthalten sein dürfen, kann man die Methode der Formalinbehandlung in verdünnter, wässriger Lösung in Anwendung bringen mit nachheriger Zersetzung des Formaldehyds durch Ammoniumsalze.
4 Bei Bodenarten, die stick-tofffrei bleiben müssen, wird der Formaldehyd durch Calciumhydroxyd zu Formose zu kondensieren sein, um ihn so unschädlich zu machen. Das ätzende $Ca(OH)_2$ verwandelt man durch CO_2 in $Ca\ CO_3$.

Am Schlusse dieses Teiles meiner Arbeit möchte ich noch kurz über ein Vegetationsgefäss berichten, das ich in Anwendung brachte

Die grösste Schwierigkeit bot bei allen bisherigen Vegetationsgefässen, in denen der Boden während der Vegetation frei von Bakterien bleiben sollte, die sterile Wasserzufuhr. Ich dachte deshalb daran, ein eingefügtes Koch-Chamberlandfilter zu benutzen, um das Wasser keimfrei in das Gefäss zu filtrieren.

Als Vorversuch brachte ich ein solches Filter aus ungebrannten Porzellan in den Hals eines Erlenmeyerkolbens, der auf jeder Seite ein offenes Glasrohr hatte. Die Stelle, mit der der Rand des Filters auf dem Rande des Kolbens auflag, verschloss ich luft- und wasserdicht mit einer Gummikappe. Dann brachte ich in den Kolben ca. 30 ccm Nährbouillon, verschloss die beiden Rohre mit Watte und sterilisierte den ganzen Apparat dreimal im Dampftopf. Hierauf füllte ich in das Filter

Digitized by Google

eine Aufschwemmung von Bacillus prodigiosus in Wasser. Das Wasser sickerte leicht durch die Poren des unglasierten Porzellans und vereinigte sich mit der Nährlösung.

Jetzt stellte ich den ganzen Apparat in den Brutschrank bei 26°. Schon nach 24 Stunden war die Bouillon gerötet und zeigte bei mikroskopischer Untersuchung einer Probe starke Entwickelung des Bacillus prodigiosus.

Das Filter hatte also den kleinen Bacillus prodigiosus hindurch gelassen und war infolgedessen zur sterilen Wasserzufuhr für Vegetationsgefässe nicht zu brauchen.

Besser gelang ein anderer Versuch. In einer Glasflasche mit Tubus am unteren Rande, wie ich sie zur Bodensterilisation verwendet hatte, wurde der Boden in der angegebenen Weise mit Formalin sterilisiert und das Formalin mit Calciumhydroxyd unschädlich gemacht. Dann wurde durch den unteren Tubus vermittelst des Glasrohres nur soviel von der überstehenden Flüssigkeit abgelassen, dass der Boden noch stark durchfeuchtet blieb.

In diese so präparierte Flasche tat ich vorher sterilierte Samen durch einfaches Hineinwerfen und verschloss die Flasche wieder mit dem Wattestopfen. Die Samen entwickelten sich normal, ohne dass der Wattestopfen gelüftet wurde. Das Wasser des Bodens verdunstete zwar, jedoch kondensierte es sich wieder zu Tröpfchen, die sich an der inneren Glaswand absetzten und wieder zum Boden herunterliefen. Der Sauerstoffzutritt durch den Wattestopfen war ein genügender. Die Pflanzen zeigten monatelang ein gesundes kräftiges

Digitized by Google

Aussehen ohne dass der Wattestopfen gelüftet wurde, oder eine Wasserzufuhr erfolgte. Es konnte sogar ohne Beeinträchtigung für die Sauerstoffzufuhr ein Becherglas lose über den Hals der Flasche gestülpt werden. Ich verwendete Thimothee- und Senfsamen und in einem grösserem derartigen Gefäss zog ich vier Maispflanzen.

Der Wassergehalt der stark feuchten Erde scheint also bei Ausschluss der Verdunstung völlig zur Entwickelung selbst grosser Pflanzen bei der entsprechenden Menge Boden zu genügen. Einer Infektion durch Bakterien gelegentlich der Wasserzufuhr während der Vegetationsperiode wäre also auf diese einfache Weise vorzubeugen.

Digitized by Google

II. Ueber Samensterilisation.

Der zweite Teil meiner Arbeit behandelt die Sterilisierung der Pflanzensamen, die zu Vegetationsversuchen natürlich ebenso notwendig ist wie ein steriler Erdboden, wenn es darauf ankommt, die Einwirkung bestimmter Bakterien auf die Pflanzen zu beobachten.

Denn stets haftet den Samen eine grosse Anzahl von Keimen an, die beim Einpflanzen derselben in den Erdboden zur Entwickelung kommen und ihn so wieder infizieren würden.

Eine besondere Schwierigkeit liegt bei der Sterilisation der Samen in dem Umstande, dass die Keimfähigkeit und die Keimungsenergie der Samen durch das betreffende Desinfektionsmittel nicht beinträchtigt werden darf.

Andererseits muss das Desinficiens jedoch wieder kräftig genug wirken, um alle den Samen anhaftenden Keime und besonders wieder die resistenten Dauersporen abzutöten.

Eine völlige Sterilisation der Samen mittels der Heisswasser-, Wasserdampf- oder Heissluftmethode war natürlich wegen des schädigenden Einflusses auf die Keimkraft der Samen von vornherein ausgeschlossen.

Allerdings wird ja z. B. von Tubeuf heisses Wasser und zwar von 56° bei 15 Minuten langer Ein-

Digitized by Google

wirkung zum Schutze des Weizens gegen Steinbrand empfohlen, jedoch würden natürlich bei dieser Temperatur die den Samen anhaftenden Dauersporen noch nicht getötet werden. Ebensowenig würde ein Dörren der Samen zum Ziele führen, da sich die Anwendung hoher Temperaturen wegen der Schädigung der Samen von selbst verbietet.

Die Versuche waren deshalb auf chemische Desinfektionsmittel zu beschränken.

Eine umfangreiche Litteratur beschäftigt sich ja mit der Kupferbeizung des Getreides gegen die so gefährlichen Brandkrankheiten und besonders ist es die Beizung mit der sogenannten Bordeaux-Brühe, welche neben reinen Kupfersulfatlösungen die am meisten verbreitete Anwendung auch bereits in der Praxis findet.

In neuerer Zeit hat man sein Augenmerk auf den für die Desinfektion immer mehr an Bedeutung gewinnenden Formaldehyd gerichtet.

Die ersten Arbeiten über die Einwirkung von Formaldehydlösung auf Getreidesamen veröffentlichte Geuther im Jahre 1895. Er versuchte Formaldehyd in wässriger Lösung gegen Getreidebrand anzuwenden.

Die nächsten Mitteilungen ebenfalls über Formaldehyd als Beizmittel gegen Brandsporen wurden von Krüger in demselben Jahre gemacht.

Im Jahre 1897 stellte Windisch eine Reihe von Versuchen an, indem er die Getreidesamen 24 Stunden lang in Formaldehydlösungen von verschiedener Konzentration quellen liess.

Dann liegen noch andere Arbeiten von Kinzel, Geuther und Neger vor.

Digitized by Google

Die letzten derartigen Arbeiten wurden von Tubeuf im Jahre 1901 veröffentlicht. Er führte seine Versuche mit Weizen, Hafer, Roggen und Gerste aus.

Alle diese Forscher arbeiteten hauptsächlich mit Cerealien, um die Einwirkung des Formaldehyds auf die gefährlichen Brandsporen zu studieren.

Die Beizungen mit mehr oder minder starken Formaldehydlösungen wurden bei einer Einwirkungsdauer von 1—24 Stunden vorgenommen.

Alle kamen zu dem übereinstimmenden Resultat, dass stärkere als 0,1 prozentige Formaldehydlösungen auf die Keimung der Cerealien sehr schädigend wirken.

An dieser Stelle seien noch kurz eine Anzahl von Desinfektionsmitteln erwähnt, die in der Praxis Anwendung finden als sogenannte insekticide Mittel. So wäre hier die Anwendung von Petrolwasserspritzen zu erwähnen, Apparate, durch die Petroleum mit Wasser gemischt und auf das Feld gespritzt wird. Ferner werden Blausäuredämpfe zur Räucherung junger Obstbäume angewandt. Auch Schwefeldämpfe ebenso wie Schwefelwasserstoff finden in der Praxis ihre Anwendung als Insekten tötende Mittel.

Gould, Jones, Withe, Fletscher und Cavanaugh empfehlen Anwendung von arsenhaltigen Mitteln gegen Insekten. Zschokke bringt Acetylengas als gutes Mittel gegen Blutläuse in Anwendung.

Ferner werden von Fabrikanten noch eine ganze Reihe von Geheim- und Spezialmitteln in den Handel gebracht, die unter den verschiedenartigsten Namen wie Antioïdium, Eclair, Verminol, Karbosanol, Propolisin etc. existieren. Sie alle haben grösstenteils den Zweck,

Digitized by Google

die Pflanzen auf dem Felde, in Weinbergen und Plantagen von schädlichen Insekten und Pilzen zu befreien.

Bei meinen Versuchen, die sich speziell auf die Sterilisierung der Samen bezogen, beschränkte ich mich auf Formaldehyd, Kupfersulfat und Quecksilberchlorid.

Ich hatte dabei folgende, leitende Fragen zu berücksichtigen:

1. Wie wirkt das Desinfektionsmittel auf die anhaftenden Bakterien und Pilze?

2. Wie gross ist die schädigende Einwirkung derselben auf die Keimung der Samen?

Erstere Frage suchte ich dadurch zu beantworten, dass ich mit Samenproben nach ihrer Behandlung mit dem Desinficiens, sterile Bouillon und Lupinenabkochung impfte, die Röhrchen in dem Brutschrank bei 26° beobachtete und nach einigen Tagen mikroskopisch auf ihren Bakteriengehalt prüfte.

Die zweite Frage sollte durch ausgedehnte, vergleichende Keimungsversuche erledigt werden.

Gut keimfähige Samen erhielt ich nach ihrer Prüfung durch die hiesige landwirtschaftliche Versuchsstation, zum kleineren Teil bezog ich dieselben aus einer renommierten Samenhandlung am Orte.

I. Formaldehyd als Sterilisationsmittel für Samen.

Da die Einwirkung des Formaldehyds auf die Cerealien nach den vorher erwähnten Arbeiten zur Genüge bekannt war, schloss ich bei meinen Versuchen dieselben zunächst aus und beschäftigte mich mit anderen Samen.

Auch hier verwendete ich Schering's 40 % Formalin. Die Zahlen beziehen sich jedoch auf den reinen Formaldehydgehalt.

Digitized by Google

Zunächst stellte ich mir wässrige Lösungen mit 0,04, 0,1, 0,2 und 0,4 % Formaldehyd her.

Die Versuche wurden in kleinen Erlenmeyerkolben vorgenommen, die mit Korkstopfen fest verschlossen wurden und vorher mit der betreffenden Formaldehydlösung gespült waren; ebenso hatten die Korke vorher längere Zeit in der betreffenden Lösung gelegen.

Die Keimungsversuche wurden auf feuchtem Sand, der mit Fliesspapier überdeckt war, bei 26° vorgenommen. Die grösseren Samen wurden ausserdem mit 2 Lagen feuchtem Fliesspapier überdeckt. Der Einfachheit halber lasse ich die demonstrativen, erhaltenen Resultate einiger Versuche in Tabellenform folgen:

1. Graue Erbse.

Angewandt: je 50 Stück Samen.

Sechsstündige Einwirkung von	Keimung nach Tagen										Keimung in %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Wasser	3	39	7	—	—	—	—	—	—	—	98 %
	—	35	14	—	—	—	—	—	—	—	
Formaldehydlösung (0,04 %)	7	41	1	—	—	—	—	—	—	—	99 %
	7	40	3	—	—	—	—	—	—	—	
Formaldehydlösung (0,1 %)	1	46	4	1	—	—	—	—	—	—	100 %
	—	45	4	1	—	—	—	—	—	—	
Formaldehydlösung (0,2 %)	—	24	18	7	—	—	—	—	—	—	98 %
Formaldehydlösung (0,4 %)	—	22	9	8	4	1	—	—	—	—	88 %

Digitized by Google

Die Keimung war durch 0,2 und 0,4 % Lösung gegen den Kontrollversuch mit Wasser verlangsamt. Bei 0,4 % Lösung waren die Keime gekrümmt und deutlich geschädigt, während bei 0,04 und 0,1 % Lösung keine Schädigung wahrzunehmen war.

Bakterienbefund: Einzelne in Bouillon übertragene Erbsen zeigten sich nur bei 0,4 % Lösung steril, während bei allen anderen Versuchen bis auf wenige Ausnahmen mit 0,2 % Lösung starke Entwickelung von Bakterien und Pilzen wahrzunehmen war.

2. Bohne.

Angewandt: je 32 Stück.

Sechsstündige Einwirkung von	Keimung nach Tagen										Keimung in %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Wasser	—	18	3	9	2	—	—	—	—	—	100 %
Formaldehydlösung (0,04 %)	—	18	4	9	1	—	—	—	—	—	100 %
Formaldehydlösung (0,1 %)	—	13	7	8	4	—	—	—	—	—	100 %
Formaldehydlösung (0,2 %)	—	15	13	2	—	1	1	—	—	—	100 %
Formaldehydlösung (0,4 %)	—	8	5	12	4	1	1	--	—	—	97,5 %

Die Keime waren bei 0,4 % Lösung schwächer und gedreht.

Bakterienbefund: Bei 0,04 und 0,1 % Lösung reichliche Bakterienentwickelung.

Bei 0,2 und 0,4 % Lösung alle Röhrchen steril.

Digitized by Google

3. Blaue Lupine.

Angewandt: je 50 Stück Samen.

Sechsstündige Einwirkung von	Keimung nach Tagen 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Keimung in %
Wasser	35	6	2	1	1	—	—	—	—	—	90 %
Formaldehydlösung (0,04 %)	2	40	1	1	—	—	—	—	—	—	88 %
Formaldehydlösung (0,1 %)	1	28	3	3	2	—	—	—	—	—	74 %
Formaldehydlösung (0,2 %)	—	5	6	2	2	2	1	—	—	—	36 %
Formaldehydlösung (0,4 %)	—	—	1	2	4	—	—	—	—	—	14 %

Hier stieg die Schädigung deutlich mit zunehmendem Formaldehydgehalt. Ausserdem wurden die Keime schwächer und hatten eine gedrehte Form.

Bakterienbefund: wie bei der Bohne.

4. Gelber Senf.

Angewandt: je 200 Stück Samen.

Sechsstündige Einwirkung von	Keimung nach Tagen 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Keimung in %
Wasser	166	30	2	2	—	—	—	—	—	—	100 %
	185	11	3	1	—	—	—	—	—	—	
Formaldehydlösung (0,04 %)	23	117	55	3	2	—	—	—	—	—	100 %
	43	136	16	3	—	1	—	—	—	—	
Formaldehydlösung (0,1 %)	5	13	68	48	22	8	3	4	1	5	92 %
	4	9	61	72	17	6	9	1	2		
Formaldehydlösung 0,2 %	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,5 %
Formaldehydlösung (0,4 %)	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1 %

Beim gelben Senf war die Schädigung eine auffallend starke. Schon 0,1 % Lösung setzte die Keimungsenergie bedeutend herab, während 0,2 und 0,4 % Lösungen bereits eine Abtötung der Keime im Samen hervorrief, so dass die Anwendung dieser Lösungen überhaupt nicht

Digitized by Google

mehr in Betracht kommen konnte, während die 0,1 % Lösung noch nicht im Stande war, die Senfsamen in allen Fällen zu sterilisieren.

Obige vier Versuche zeigen deutlich, dass die Anwendung des Formaldehyds zur Sterilisation dieser Samen eine sehr fragliche ist, da der Formaldehyd seine Eigenschaft als Pflanzengift schon in schwächerer Lösung in bedeutender Weise geltend macht, während die Bakterien durch diese Lösungen meist nur wenig in ihrer Entwickelungsfähigkeit behindert werden, falls die Lösungen nur sechs Stunden einwirken.

Um nun auch die Einwirkung des Formaldehyds auf kleine Samen zu studieren, stellte ich folgende Versuche mit Rotklee-, Grünklee- und Timotheesamen an.

1. Böhmischer Rotklee.

Angewandt: je 200 Stück Samen.

Sechsstündige Einwirkung von	Keimung nach Tagen										Keimung in %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Wasser	136	30	2	4	1	8	3	—	4	—	91,5 %
	138	30	3	1	1	—	6	—	4	—	
Formaldehydlösung (0,04%)	74	64	5	6	1	2	1	—	1	—	80 %
	49	86	15	10	2	8	1	—	—	—	
Formaldehydlösung (0,1%)	19	50	28	16	7	1	3	—	—	—	61,5 %
	25	52	19	20	3	1	2	—	—	—	
Formaldehydlösung (0,2%)	15	24	6	7	6	4	3	—	—	—	32,5 %
Formaldehydlösung (0,4%)	8	31	6	5	5	2	1	—	—	—	29 %

Digitized by Google

Auch hier war die schädigende Wirkung des Formaldehyds eine steigende, obwohl nicht so bedeutend wie beim Senf, was wohl mit der härteren Schale des Rotklees und somit mit dem schwereren Eindringen des Formaldehyds zusammenhängt.

Jedoch waren die kleinen Samen bereits durch 0,1 % Lösung sterilisiert.

2. Grünklee.

Angewandt: je 200 Stück Samen.

Sechsstündige Einwirkung von	Keimung nach Tagen										Keimung in %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Wasser	25	69	15	10	1	3	—	—	—	—	65,75 %
	18	60	19	10	2	—	—	1	—	—	
Formaldehydlösung (0,04 %)	14	67	9	4	2	2	1	—	—	—	49 %
	27	45	19	4	7	4	1	—	—	—	
Formaldehydlösung (0,1 %)	10	46	24	7	3	4	—	1	—	—	46,5 %
	20	38	16	5	7	3	—	2	—	—	
Formaldehydlösung (0,2 %)	2	40	16	4	6	5	5	—	—	—	39 %
Formaldehydlösung (0,4 %)	1	43	19	7	5	2	1	1	—	—	39,5 %

Die Sorte war schlechter keimfähig. Auch hier war die Schädigung jedenfalls aus demselben Grunde wie beim Rotklee nicht so bedeutend wie beim Senf.

Die Keime beider Kleesorten waren auch bei 0,4 % Lösung normal.

Digitized by Google

3. Timothee (Phleum pratense).

Angewandt: je 200 Stück Samen.

Sechsstündige Einwirkung von	Keimung nach Tagen										Keimung in %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Wasser	5	37	40	73	20	10	—	1	—	—	95 %
	8	56	53	42	26	9	—	—	—	—	
Formaldehydlösung (0,04 %)	3	46	121	8	6	2	—	—	—	—	94,75 %
	4	50	105	12	14	8	—	—	—	—	
Formaldehydlösung (0,1 %)	2	43	99	22	11	1	1	1	—	—	92,5 %
	3	39	94	31	21	2	—	—	—	—	
Formaldehydlösung (0,2 %)	—	50	98	10	13	4	—	—	—	—	85,5 %
Formaldehydlösung (0,4 %)	—	44	76	22	15	5	2	1	—	—	82,5 %

Auffallender Weise hatte der Formaldehyd den kleinen Timotheesamen sehr wenig geschadet.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass man sich dem von Windisch aufgestellten Satz, dass der Formaldehyd die kleineren Samen mehr schädigt als die grossen, nicht ohne weiteres anschliessen kann. Es wird jedenfalls stets auf die Beschaffenheit der Samenschale ankommen, von der das Vordringen des Formaldehyds bis zum Keim abhängig sein wird.

Ferner ergeben obige Versuche, dass der Formaldehyd zum Zwecke der Samensterilisation wenig brauchbar sein wird, da seine Eigenschaft als Pflanzengift seinen Wert als Desinficiens entschieden überwiegt.

Digitized by Google

Wenn der Formaldehyd auch bei gewissen Pflanzenkrankheiten als gutes Beizmittel brauchbar ist und auch bereits in der Praxis angewandt wird, so ist er doch zur völligen Samensterilisation speziell zur Abtötung der anhaftenden Dauersporen von geringer Bedeutung; jedenfalls müsste die Zweckmässigkeit seiner Anwendung für jeden speziellen Fall durch Uebertragen einer Reihe von Samen in Nährflüssigkeit und mikroskopischer Untersuchung derselben nach einigen Tagen einer genauen Vorprüfung unterzogen werden.

2. Quecksilberchlorid (Sublimat) als Sterilisationsmittel für Samen.

Schon im Jahre 1881 wies Koch in seiner grundlegenden Arbeit über „Desinfektion" auf die vorzügliche Bakterien und Sporen tötende Wirkung des Sublimats hin. Er fand, dass eine Sublimatlösung von 1 : 50000 noch im Stande war, Milzbrandsporen in wenigen Minuten abzutöten. Auch nahm er die ersten Versuche mit den noch resistenteren Sporen der Gartenerde vor. Später wurden seine Versuche von Geppert in der Weise ergänzt, dass Geppert eine Entgiftung der mit Sublimatlösungen behandelten Milzbrandsporen vornahm. Er fand dabei, dass derartige Sporen, die nach dem Koch'schen Verfahren als abgetötet zu betrachten waren, wieder keimfähig wurden, wenn das Quecksilberchlorid, dass durch die Sporen festgehalten wurde, durch Schwefelammonium gefällt wurde.

Deshalb empfiehlt Geppert die Anwendung stärkerer Sublimatlösungen, um eine völlige Vernichtung

Digitized by Google

der Sporen zu erreichen. Im Uebrigen ist ja die vorzügliche Wirkung des Sublimats bei seiner allgemein verbreiteten Anwendung in der Praxis zur Genüge bekannt.

In der Praxis sind schon öfters zum Sterilisieren von Samen schwache Sublimatlösungen verwandt, die 0,2 bis 1 % reines Quecksilberchlorid enthielten. Man liess dieselben 5—10 Minuten auf die Samen einwirken.

E. Schulze verwendete auch stärkere Lösungen, die er jedoch nur höchstens 4 Minuten einwirken liess. Er kam jedoch damit zu keinem genügenden Resultat. Er verwendete als stärkste Lösung eine 0,6 %, die er nur 4 Minuten einwirken liess. Eine 0,1 % Lösung brachte er im höchsten Falle 12 Minuten mit den Samen in Berührung. In beiden Fällen waren nicht alle Samen steril. Schulze fand bei seinen Versuchen, die er nur mit Gerste und Weizen vornahm, eine starke Schädigung der Keime beider Samen und kam zu dem Resultat, dass es überhaupt nicht möglich sei, Gerste mit Sublimat zu sterilisieren, ohne die Keimfähigkeit bedeutend zu schädigen. Etwas bessere, jedoch auch keine sicheren Erfolge erhielt er beim Weizen.

Bei meinen folgenden Versuchen stellte ich mir wieder die beiden Fragen

1. Wie wirkt Sublimat auf die den Samen anhaftenden Bakterien und Sporen?

2. Wie gross ist die schädigende Einwirkung desselben auf die Keimung der Samen?

Zunächst bestätigten meine Versuche, dass mit derartig schwachen Sublimatlösungen, wie sie meistens an-

Digitized by Google

gewandt wurden, bei so kurzer Einwirkungsdauer durchaus nicht immer eine Abtötung der anhaftenden Sporen zu erreichen war. Andererseits zeigen jedoch die folgenden Tabellen, dass die schädigende Einwirkung des Sublimats auf die Keimung der Samen lange nicht so gefährlich ist, wie Schulze annimmt, und dass es sehr wohl möglich ist, bei längerer Einwirkung einer stärkeren Sublimatlösung sterile Samen zu erzielen. Allerdings müssen dieselben nach der Behandlung mit sterilem Wasser gespült werden.

Für letzteren Zweck konstruierte ich mir einen besonderen Apparat, da ein Abspülen mit sterilem Wasser in offenen Gefässen wegen der Infektion durch die Luft immerhin eine fragliche Sache bleibt, worauf wohl auch die Misserfolge von C. Schulze zurückzuführen sind. Der Apparat findet an späterer Stelle meiner Arbeit seine Beschreibung.

Zunächst machte ich einen Vorversuch mit lufttrockenen Erdproben, die eine grosse Menge verschiedener Dauersporen enthielten.

Kleine Erlenmeyerkolben, die mit Sublimatlösungen ausgespült waren, beschickte ich mit je 1 gr Erde und übergoss dieselbe mit Sublimatlösungen von 1,0 : 500,0, 1,0 : 750,0 1,0 : 1000,0, 1,0 : 1500,0 und 1,0 : 2000,0. Die Kölbchen verschloss ich dann fest mit Korken, die vorher ebenfalls in Sublimatlösung geweicht hatten.

Diese Lösungen liess ich je $^1/_4$ und $^1/_2$ Stunde auf die Proben einwirken und impfte dann mit geglühter Platinöse unter aller Vorsicht in Röhrchen mit steriler Bouillon und Lupinenabkochung über.

Digitized by Google

Die Röhrchen hatten mit ihrem Inhalt vorher 10 Tage im Brutschrank gestanden, um sie auf ihre Sterilität zu prüfen. Es war in keinem Falle Bakterienwachstum eingetreten. Die Wattestopfen sengte ich nach der Impfung ab.

Diese Impfversuche liess ich bei 26° im Brutschrank und prüfte sie nach drei Tagen.

Hierbei stellte es sich heraus, dass erst eine Sublimatlösung von 1,0 : 1000,0 bei mehr als 15 Minuten langer Einwirkung im Stande war, sämtliche Sporen der Gartenerde abzutöten.

Denn selbst bei einer Einwirkung einer 0,1 % Lösung, die eine Viertelstunde gedauert hatte, waren von 10 Röhrchen doch noch 2 infiziert.

Spätere Versuche bestätigten, dass erst eine $^1/_{10}$ % Lösung bei 20 Minuten langer Einwirkung auf die Erdproben eine absolute Garantie für Sterilität bietet.

Um noch festzustellen, ob etwa die geringe, mit der Platinöse mitgeführte Menge der Sublimatlösung die Entwickelung der Bakterien in den Röhrchen mit Nährlösung bei dauernder Einwirkung behindert, wurden zur Kontrolle eine Anzahl Röhrchen mit steriler Nährlösung mit einer Oese Sublimatlösung 1,0 : 500,0 versetzt und mit Erde geimpft. Aber schon nach 12 Stunden war bei 26° in allen Röhrchen starkes Bakterienleben zu konstatieren.

Einen weiteren Versuch, um die Einwirkung des Sublimats auf die Sporen eines bekannten Bazillus zu erfahren, unternahm ich mit den sehr resistenten Sporen des Bazillus subtilis (Heubacillus).

Bacillus subtilis wurde zu diesem Zweck aus Reinkulturen in Lupinenabkochung geeimpft. Nach zwei

Digitized by Google

Tagen hatten sich im Brutschrank starke Häute gebildet, die sich bei mikroskopischer Untersuchung aus langen Fäden von Bac. subtilis zusammengesetzt zeigten.

Von diesen Häuten liess ich die Nährlösung ablaufen und übergoss dieselben mehrmals mit sterilisiertem destilliertem Wasser, um die Bakterien durch diese Nahrungsentziehung zur Sporenbildung zu zwingen. Schon nach 3 Tagen waren bei Zimmertemperatur fast alle Fäden in Sporen zerfallen.

Von diesem Sporenmaterial goss ich das Wasser wieder ab und übergoss mit Sublimatlösung 1,0 ; 1000,0. Nach 5, 10 und 15 Minuten impfte ich in Lupinenabkochung über. Es kamen jedoch nach 8 Tagen keine Sporen mehr zur Entwickelung.

Dieser Versuch zeigte dem vorigen gegenüber deutlich, dass sich in der Gartenerde Dauersporen befinden, die dem Quecksilberchlorid einen grösseren Widerstand entgegensetzen als die Sporen des Bacillus subtilis. —

In Beantwortung der zweiten Frage handelte es sich darum, die Einwirkung des Quecksilberchlorids auf die Keimung des Samen zu studieren.

Als Vorversuch behandelte ich zunächst ein Gemenge gutkeimender Samen von Erbse, Wicke, Gerste, Rotklee, Timothee und Senf je $^1/_2$ Stunde mit Sublimatlösungen von der Stärke 1,0 : 100,0, 1,0 : 250,0 und 1,0 : 500,0.

Die Samen spülte ich mit Wasser ab und breitete sie auf nassem Sand, der sich mit Fliesspapier überdeckt in Glasschalen befand, aus.

Als Kontrollversuch war eine Schale in derselben Weise beschickt, jedoch ohne vorherige Behandlung der Samen mit Sublimat.

Digitized by Google

Die zugedeckten Schalen setzte ich bei 26° zum Keimen in den Brutschrank.

Nach je 3 Tagen untersuchte ich die Samen auf ihr Keimungsverhältnis und erhielt folgende Resultate:

Bei den mit einer Lösung 1,0 : 500,0 behandelten Samen zeigte sich ein sehr gesundes, durchaus normales Wachstum der Keime. Die Keime unterschieden sich in nichts von denen der unbehandelten Samen. Die bei den unbehandelten Samen und bei sonstigen Versuchen auf nassem Sand auftretenden Schimmelpilze fehlten gänzlich.

Die Sublimatlösung 1,0 : 250,0 hatte wenig schädigend auf die Keimungsenergie gewirkt.

Die Keime waren zwar im Durchschnitt etwas kleiner, jedoch gesund und kräftig und wuchsen später so nach, dass sich der Unterschied verwischte.

Erheblich schädigend hatte die Sublimatlösung 1,0 : 100,0 auf die Keime gewirkt. Einige Keime waren zwar vorhanden, jedoch entwickelten sich dieselben viel langsamer als bei den anderen Versuchen.

Aus diesem Grunde dürfte die Anwendung einer Sublimatlösung 1,0 : 100,0 zu verwerfen sein.

Nach dieser gelungenen Vorprüfung handelte es sich darum, die Einwirkung des Sublimats auf die Keimungsenergie und die Keimfähigkeit der verschiedenen Samenarten genauer festzustellen.

Da für die Praxis nach zahlreichen Versuchen eine Sublimatlösung 1,0 : 500,0 in jedem Falle bei dreissig Minuten langer Einwirkung genügen würde, um die Samen zu sterilisieren, so setzte ich diese Konzentration

Digitized by Google

für die folgenden Versuche als die stärkste fest und verglich ihre Wirkung auf die Samen mit einer Lösung von 1,0 : 1000,0 bei Behandlung von je $^1/_2$ und $^1/_4$ Stunden. Zum Vergleiche stellte ich stets zugleich Kontrollversuche mit unbehandelten Samen an, d. h. Samen, die dieselbe Zeit in Wasser lagen.

Da die vorzügliche Bakterien tötende Kraft des Sublimats neben seiner geringen Wirkung als Pflanzengift denselben als Beizmittel gegen Pflanzenkrankheiten, die durch Bakterien hervorgerufen werden und sich durch die Samen übertragen, als geeignet erscheinen lässt, verwendete ich bei den folgende Keimungsversuchen hauptsächlich Samen von solchen Pflanzen, die unter Bakterienkrankheiten zu leiden haben.

In der Litteratur ist nur ein Fall angegeben, in der das Quecksilberchlorid als Beizmittel in der landwirtschaftlichen Praxis Verwendung findet.

Bolley verwendete es (Bull. 4 u. 9 Versuchsstation Nord Dacota) mit vorzüglichem Erfolg gegen den sogenannten Kartoffelschorf.

Er liess eine 3 $^0/_{00}$ Sublimatlösung $^1/_2$ und 2 Stunden auf schorfige Kartoffeln einwirken, spülte dieselben mit Wasser ab und setzte sie aus.

Die Ernte ergab ohne Behandlung 1 $^0/_0$ gesunde Kartoffeln, während die behandelten Saatkartoffeln in beiden Fällen 99 $^0/_0$ gesunde Kartoffeln hervorbrachten.

Ebenso hob eine 1 $^0/_{00}$ Sublimatlösung nach 1 $^1/_2$ stündiger Behandlung die Anzahl der gesunden Kartoffeln von 4 $^0/_0$ auf 98 $^0/_0$, gewiss ein gelungener Beweis für die vorzügliche Wirkung des Quecksilberchlorids.

Digitized by Google

Ueber die Quantität der Ernteergebnisse finden sich in dieser Arbeit leider keine Angaben.

Ich behandelte gesunde Kartoffeln eine halbe Stunde mit einer Sublimatlösung 1,0 : 500,0. Die Keimung ging ebenso schnell und kräftig vor sich wie bei unbehandelten Knollen. Es ist also mit Sicherheit anzunehmen, dass das Quecksilberchlorid auch auf die Quantität der Ernte keine nachteiligen Folgen haben wird, wenngleich der Beweis dafür erst durch grössere Feldversuche zu erbringen wäre.

Ich will hier die Resultate mit Auswahl der am meisten demonstrativen Versuche in Tabellenform folgen lassen, die ich vornahm, um die schädigende Wirkung des Sublimats auf die Keimung verschiedener Samen kennen zu lernen.

Die Samen erhielt ich wiederum aus der hiesigen, landwirtschaftlichen Versuchsstation.

Die tropischen Samen erhielt ich durch das Kolonialwirtschaftliche Comité in Berlin, auf dessen Wunsch ich diese letzteren Desinfektions- und Keimungsversuche vornahm.

Die Keimversuche wurden dieses Mal nicht auf feuchtem Sand, sondern zwischen nassem Fliesspapier vorgenommen, um das Auftreten der Schimmelpilze verfolgen zu können, die bei Versuchen auf nassem, nicht sterilisiertem Sande auch aus dem Sande herrühren konnten. Während eine solche Infektionsgefahr bei Benutzung von gutem Filtrierpapier viel geringer ist.

Die Temperatur war bei allen Versuchen wieder 26°.

Die Samen wurden durch tägliche Wasserzugabe gleichmässig feucht gehalten.

Digitized by Google

1. Zuckerrübe.

Angewandt: je 100 Stück Samen.

Behandlung mit	Keimung nach Tagen										Keimung in %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Wasser ¼ Std.	—	11	27	36	7	3	1	2	2	3	92 %
Wasser ½ Std.	—	17	40	24	8	1	—	1	—	1	92 %
$HgCl_2$ (1:500) ¼ Std.	—	2	8	38	17	12	7	2	2	3	91,5 %
	—	3	14	36	17	8	8	2	2	1	
„ ½ Std.	—	2	8	43	16	7	3	4	2	3	89 %
	—	4	8	30	26	7	5	3	4	3	
$HgCl_2$ (1:1000) ¼ Std.	—	14	41	7	10	6	4	2	—	3	89 %
	—	5	39	21	16	2	2	2	2	1	
„ ½ Std.	—	6	37	20	24	1	—	1	1	1	90,5 %
	—	6	44	14	10	4	3	1	4	4	

2. Gelber Senf.

Angewandt: je 100 Stück Samen.

Behandlung mit	Keimung nach Tagen										Keimung in %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Wasser ¼ Std.	97	2	1	—	—	—	—	—	—	—	100 %
Wasser ½ Std.	98	1	—	1	—	—	—	—	—	—	100 %
$HgCl_2$ (1:500) ¼ Std.	51	41	4	2	—	2	—	—	—	—	99 %
	63	28	6	1	—	—	—	—	—	—	
$HgCl_2$ (1:500) ½ Std.	25	35	12	22	2	4	4	2	1	—	98 %
	28	36	14	19	1	1	—	—	—	—	
$HgCl_2$ (1:1000) ¼ Std.	89	10		—	—	—	—	—	—	—	99,5 %
	87	12	—	1	—	—	—	—	—	—	
$HgCl_2$ (1:1000) ½ Std.	73	23	3	1	—	—	—	—	—	—	99,5 %
	77	19	—	2	—	1	—	—	—	—	

Digitized by Google

3. Timothee (Phleum pratense).

Angewandt: je 100 Stück Samen.

Behandlung mit	Keimung nach Tagen										Keimung in %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Wasser ¼ Std.	—	12	14	24	18	9	1	2	1	—	91 %
Wasser ½ Std.	—	10	16	31	15	10	6	3	2	3	96 %
Sublimatlösung (1,0 : 500,0) ¼ Std.	—	9	16	26	15	9	5	2	2	1	84,5 %
	—	14	10	18	13	16	8	3	1	1	
dto. ½ Std.	—	10	15	23	14	9	6	3	3	2	83,5 %
	—	11	13	21	20	10	2	1	2	2	

4. Französische Luzerne.

Angewandt: je 100 Stück Samen.

Behandlung mit	Keimung nach Tagen										Keimung in %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Wasser ¼ Std.	78	15	2	2	—	—	—	—	—	—	97 %
Wasser ½ Std.	75	11	2	2	2	1	—	—	—	—	97 %
Sublimatlösung (1 : 500) ¼ Std.	75	15	3	1	—	—	—	—	—	—	95,5 %
	67	20	6	1	1	—	—	—	—	—	
dto. ½ Std.	67	19	2	3	1	1	—	—	—	—	94 %
	68	20	5	1	1	—	—	—	—	—	

Der nächste Versuch zeigt die Wirkung des Sublimats im Vergleich zur Kupfersulfatwirkung bei der Erbse.

Digitized by Google

5. Erbse.

Angewandt: je 50 Stück Samen.

Behandlung mit		Keimung nach Tagen 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Keimung in %
Wasser	1/4 Std.	42	3	2	1	1	—	—	—	—	—	98 %
	1/2 Std.	44	4	1	—	—	—	—	—	—	—	98 %
Sublimatlösung (1 : 500)	1/4 Std.	41	4	2	1	—	—	—	—	—	—	97 %
		37	8	1	2	1	—	—	—	—	—	
Sublimatlösung (1 : 500)	1/2 Std.	38	5	2	2	1	—	—	—	—	—	96 %
		36	4	2	3	1	1	1	—	—	—	
Kupfersulfatlösung (0,5 %)	6 Std.	4	3	7	—	—	—	—	—	—	—	21 %
		1	5	1	—	—	—	—	—	—	—	
Kupfersulfatlösung (1 %)	6 Std.	—	4	2	—	1	—	—	—	—	—	14 %
		—	5	2	—	—	—	—	—	—	—	

6. Weizen

mit Steinbrand behaftet (vom biologischen Institut aus Berlin)*

Vergleich mit Kupfersulfatwirkung).

(Angewandt: je 50 Stück Samen).

Behandlung mit		Keimung nach Tagen 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Keimung in %
Wasser	1/4 Std.	—	49	—	—	—	—	—	—	—	—	98 %
	1/2 Std.	—	50	—	—	—	—	—	—	—	—	100 %
Sublimatlösung (1 : 500)	1/4 Std.	—	48	2	—	—	—	—	—	—	—	100 %
		—	48	1	1	—	—	—	—	—	—	
Sublimatlösung (1 : 500)	1/2 Std.	—	46	3	—	—	—	—	—	—	—	99,5 %
		—	45	3	1	1	—	—	—	—	—	
Kupfersulfatlösung (0,5 %)	10 Std.	—	37	7	2	2	—	—	—	—	—	95 %
		2	33	8	1	2	1	—	—	—	—	
Kupfersulfatlösung (1 %)	10 Std.	—	—	30	9	3	2	—	—	—	—	83 %
		—	—	27	9	1	2	—	—	—	—	

* Biologische Abteilung des Kaiserl. Gesundheitsamtes.

Digitized by Google

Obige Versuche zeigen, dass von einer Schädigung bei Zuckerrübe, Senf und Luzerne durch die Sublimatlösungen überhaupt nicht die Rede sein kann, während die Desinfektionswirkung bei zahlreichen Impfversuchen eine vorzügliche war.

Beim Thimotheegras war allerdings eine Schädigung der Keimfähigkeit um ca. 10 % wahrzunehmen, jedoch dürfte diese Schädigung für Vegetationsversuche auch nicht von Bedeutung sein. Die gekeimten Samen gediehen jedenfalls ebenso gut wie die in Wasser gequellten Samen. Eine Schimmelbildung, wie sie bei den in Wasser gequellten Samen sich bei jedem Versuch einstellte, fand bei den Versuchen mit Sublimatlösung stets nicht statt.

Was nun die vergleichenden Versuche zwischen der Wirkung von Sublimat und Kupfersulfat anbetrifft, so zeigt der Versuch mit Erbsen den kollossalen Unterschied, der zwischen beiden Desinfektionsmitteln besteht, was die Schädigung der Keimfähigkeit anbetrifft. Während die Schädigung der Samen durch die Sublimatlösungen gleich Null war, wurden die Erbsen durch Kupfersulfat so stark in ihrer Keimung beeinträchtigt, dass sich dessen Anwendung hier von selbst verbietet. Die Konzentration der Kupfersulfatlösungen sowie die Dauer der Einwirkung war die beim Beizen von Getreide übliche. Die Erbsen wurden durch die Kupfersulfatlösungen grün gefärbt und schimmelten vom ersten Tage an, während nur wenige überhaupt zur Keimung gelangten. Dieses Resultat wurde durch sehr umfangreiche Versuche, die zufällig im hiesigen landwirtschaftlich-physiologischen

Digitized by Google

Institut zu gleicher Zeit vorgenomen wurden, voll und ganz bestätigt.

Für den gefährlichen Steinbrand beim Weizen würde sich in Sublimat ein vorzügliches Beizmittel gefunden haben, denn die Steinbrandsporen werden nach Herzberg bereits durch 0,001 % Sublimatlösungen abgetötet, sogar Ustilago Jensenii, eine Brandart, die dem Sublimat die grösste Widerstandsfähigkeit von allen anderen Brandarten entgegensetzt.

Herzberg meint zwar, dass das Quecksilberchlorid wegen seiner Vergiftungsgefahr für den Menschen nicht angewandt werden dürfe, jedoch wäre das heute wohl nicht mehr so gefährlich, da nach meiner Meinung schon manche Landwirte mit Sublimat als Desinficiens für Wunden bei Tieren etc. umzugehen wissen.

Es wäre die Anwendung von Sublimat nach den beschriebenen Versuchen also nur zu empfehlen.

Ein weiterer Versuch mit Zwiebeln, der eigentlich wegen einer später beschriebenen Bakteriosis der Hyazinthenzwiebeln mit solchen Zwiebeln vorgenommen werden sollte, wurde aus Mangel an Material im Frühjahr mit gewöhnlichen Speisezwiebeln angesetzt.

Die Zwiebeln wurden mit Sublimatloesung (1 : 500) eine halbe Stunde behandelt und dann eingepflanzt. Das Wachstum ging in ebenso normaler Weise vor sich wie bei einem Kontrollversuch mit unbehandelten Zwiebeln. Die nächsten Versuche wurden mit tropischen Samen angestellt.

Digitized by Google

1. Mais aus Peru.

Angewandt: je 20 Stück Samen.

Behandelt mit		Keimung nach Tagen 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Keimung in %
Wasser	1/4 Std.	8	8	3	1	—	—	—	—	—	—	100 %
	1/2 Std.	14	5	—	—	—	—	—	—	—	—	95 %
Sublimatlösung (1,0 : 500,0)	1/4 Std.	7	10	3	—	—	—	—	—	—	—	100 %
		14	6	—	—	—	—	—	—	—	—	
dto.	1/2 Std.	7	9	1	1	2	—	—	—	—	—	100 %
		15	5	—	—	—	—	—	—	—	—	

2. Amerikanische Baumwolle.

Angewandt: je 50 Stück Samen.

2a. Baumwolle aus Togo.

Angewandt: je 40 Stück Samen.

Behandlung wie nebenstehend. Keimung nach 8 Tagen in %	Behandlung mit		Keimung nach Tagen 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Keimung in %
88 %	Wasser	1/4 Std.	21	3	2	1	1	1	1	—	—	—	75 %
		1/2 Std.	19	5	2	2	—	—	—	—	—	—	70 %
86 %	Sublimatlösung (1,0 : 500,0)	1/4 Std.	24	3	5	1	1	—	—	—	—	—	83,5 %
			15	7	6	2	1	—	2	—	—	—	
82 %	dto.	1/2 Std.	18	5	4	2	3	—	—	—	—	—	85 %
			24	7	—	1	1	1	2	—	—	—	

Digitized by Google

Ausserdem wurde noch ein Versuch mit Ingberwurzeln vorgenommen, die ich ebenfalls durch das Kolonialwirtschaftliche Comité Berlin zur Prüfung erhielt.

Die Ingberrhizome zeigten auch wie die vorigen Versuche nach Behandlung mit Sublimatlösung 1,0 : 500,0 eine halbe Stunde lang, gleiche Keimung wie unbehandelte Wurzeln.

Zum Schlusse will ich zur Beschreibung des vorher erwähnten Apparates übergehen, den ich konstruierte, um das Sterilisieren und das nachherige Spülen der Samen mit sterilem Wasser unter Ausschluss der Gefahr der Luftinfektion vornehmen zu können. Denn für das sichere Erkennen, ob die Bakterien und Sporen der Samen nach der Behandlung mit Desinfektionsmitteln in geeigneter Nährlösung noch entwickelungsfähig seien, ist es natürlich gerade bei unbekannten Arten äusserst wichtig,die Infektionsgefahr durch den Staub in der Luft, der ja leicht dieselben Arten enthalten kann, zu vermeiden. Das ist nun aber beim Spülen der Samen in offenen Gefässen mit noch so sterilem Wasser so gut wie ausgeschlossen.

Der Apparat bestand in seinen Hauptteilen (siehe Tafel) aus einer 4 Liter haltenden Kochflasche (A), einem 1 Liter fassenden Kolben (B), dem mit nach oben gerichteten Tubus (m) und Ausflussrohr (e) versehenen, glatten Kolben (C) zur Anfnahme der Samen, dem wattegefüllten Filter (D) und einer Wasserstrahlluftpumpe (E). Die Leitungen bestanden aus Glasröhren, die mit Gummischläuchen luft- und wasserdicht verbunden waren.

Digitized by Google

Die Anwendung des Apparates fand in folgender Weise statt.

Zunächst wurde die Kochflasche (A) dreiviertel mit destilliertem Wasser gefüllt, dann wurde das Glasrohr (gg^1), das durch den Watteverschluss (f) führte bis zur Marke (h) herausgezogen. Hierauf wurde der Hahn (b) geöffnet und das Wasser durch die Flamme eines Bunsenbrenners drei Tage hintereinander je eine halbe Stunde gekocht.

Das Kochen hatte einen doppelten Zweck. Erstens wurde das Wasser in (A) dadurch sterilisiert und zweitens sterilisierten die durch den ganzen Apparat strömenden Wasserdämpfe denselben zugleich mit.

Nachdem das Wasser abgekühlt war, wurde der Hahn (b) geschlossen, die Samen in den platten Kolben (C) durch Tubus (m) hineingetan, Tubus (m) wieder geschlossen und nach Oeffnung des Hahnes (a) aus dem Kolben (B) das betreffende Desinficiens (in diesem Falle Sublimatlösung, über die Samen in (C) durch die Saugpumpe (E) gesogen.

Nachdem das Desinficiens lange genug auf die Samen eingewirkt hatte, wurde der konische Gummischlauch (c), der aus einem Kindersaugpfropfen mit abgeschnittener Spitze bestand, bei (k) von dem Zwischenstück (c) herabgezogen, Kolben (C) mit dem Ausflussrohr (e) nach unten gerichtet und die Sublimatlösung abgesogen. Hierauf wurde der Gummiverschluss (c) wieder über das Zwischenstück (l) gezogen, dass mit einem Gummiring bei (d) in Tubus (m) steckte.

Damit war der Vorgang der Sterilisation mit Sublimat beendet.

Digitized by Google

Zum Spülen der Samen mit sterilem Wasser wurde das Glasrohr (gg¹) unter Betupfen mit der Flamme eines Bunsenbrenners zur Abtötung der etwa anhaftenden Bakterien bis auf den Boden des Wassers geschoben, der Hahn (b) geöffnet und das sterile Wasser in derselben Weise mehrmals über die Samen geleitet und wieder abgesogen wie vorher die Sublimatlösung.

Dann wurde Tubus (m) geöffnet und die Samen mit ausgeglühter Platinöse oder Pincette in die betreffende Nährlösung übertragen zur Prüfung auf Sterilität.

Unter Anwendung dieses Apparates gelang es mir, vollkommen sterile Samen zu erhalten.

Was nun die günstige Wirkung des Quecksilberchlorids auf die zu sterilisierenden Samen anbetrifft, so muss es natürlich erst genauen Untersuchungen überlassen bleiben, wie diese eigentümliche Wirkung des Sublimats zu erklären ist.

Es wäre vielleicht die Annahme nicht ungerechtfertigt, dass das Sublimat, das bekanntermassen mit Eiweisskörpern in Wasser unlösliche Verbindungen eingeht, die dessen Desinfektionswirkung z. B. bei Wunden, beeinträchtigt, auch hier mit der äusseren Schicht der in den Samencotyledonen enthaltenen Eiweisskörper sich derartig verbindet, dass diese Verbindungen ein weiteres Vordringen des Sublimats bis zum jungen Keim verhindern und so gewissermassen einen Schutzmantel für den Keim gegen die Giftwirkung des Sublimats bilden.

Andererseits besitzen die Bakterienkörper aber die Fähigkeit, des Quecksilberchlorid gerade begierig aufzu-

Digitized by Google

nehmen, es sehr intensiv festzuhalten und dadurch seine Wirkung eher zu erhöhen.

So wäre das Quecksilberchlorid wegen seiner vorzüglichen Eigenschaft, die Mikroorganismen zu töten und wegen seiner geringen schädigenden Wirkung auf die Keimungsenergie und die Keimfähigkeit der Samen zur Sterilisation derselben zu empfehlen.

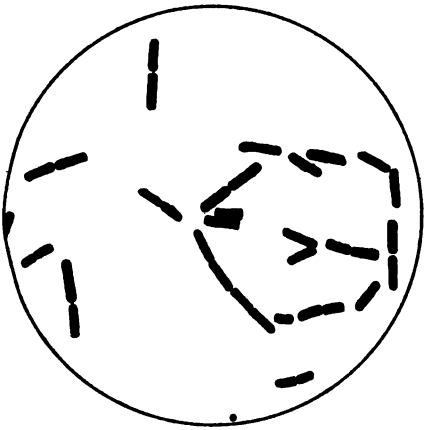
Digitized by Google

Thesen.

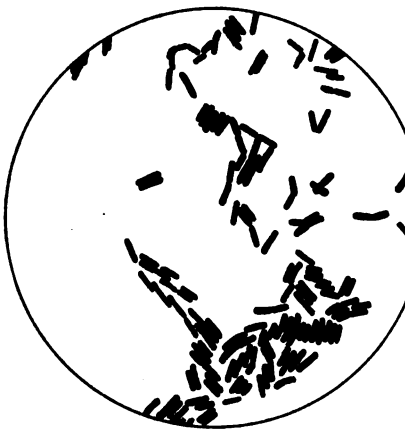
1. Die günstige Wirkung des Schwefelkohlenstoffs auf die Ertragsteigerung von Kulturpflanzen ist abhängig von seiner Einwirkung auf die Mikroorganismen des Bodens.
2. Die Virulenz der Knöllchenbakterien lässt sich willkürlich steigern.

Digitized by Google

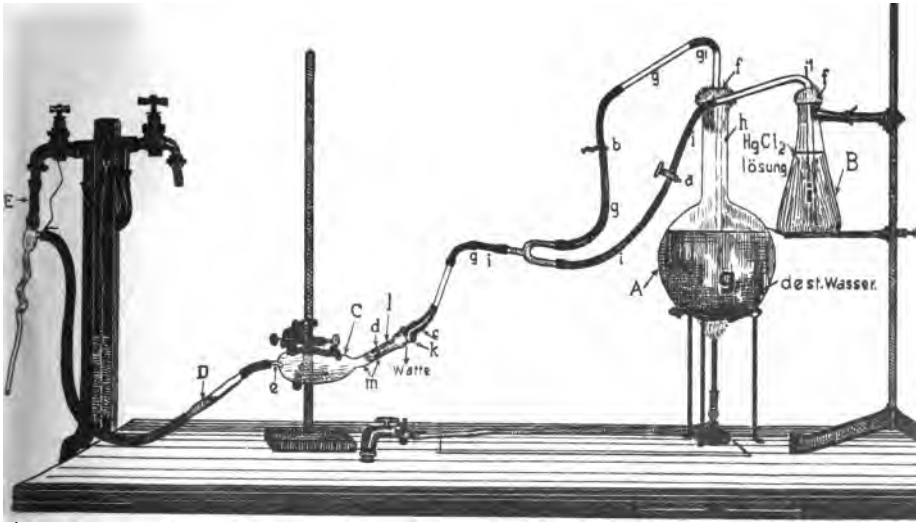
Digitized by Google



Bacillus A.



Bacillus B.



Digitized by Google

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY

Digitized by Google

Lebenslauf.

Ich, Walter Kehler, wurde am 27. Mai 1876 als Sohn des verstorbenen Konrektors Hermann Kehler und seiner Frau Maria geb. Schiefferdecker zu Königsberg i. Pr. geboren. Ich besuchte das hiesige Kneiphöfische Gymnasium bis zur Obersekunda und widmete mich dann dem Apothekerberuf, bestand Ostern 1897 die Gehilfenprüfung und Oktober 1901 das Staatsexamen. Ich studierte an den Universitäten München, Erlangen und Königsberg und zwar vom W.-S. 1901/02 Naturwissenschaften und hörte folgende Herren Dozenten:

Albert, Baumgart, v. Bayer, Fischer, Goebel, Heim, Hilger, Lühe, Lürssen, Pahl, Roentgen, Solereder, Stutzer, Walter, Wiedmann

Ihnen und besonders Herrn Prof. Dr. Stutzer sage ich für seine lebhafte Teilnahme und Unterstützung bei Anfertigung meiner Doktorarbeit ehrerbietigsten Dank.

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

Digitized by Google

THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE
STAMPED BELOW

AN INITIAL FINE OF 25 CENTS
WILL BE ASSESSED FOR FAILURE TO RETURN
THIS BOOK ON THE DATE DUE. THE PENALTY
WILL INCREASE TO 50 CENTS ON THE FOURTH
DAY AND TO $1.00 ON THE SEVENTH DAY
OVERDUE.

FEB 6 1935

LD 21–100m-8,'34

Digitized by Google

YB 51394

Digitized by Google